- 1 黄羽肉鸡不同来源高粱表观代谢能的评定及其养分代谢率的比较
- 2 胡贵丽 叶小飞 王玉诗 范志勇 张石蕊 贺 喜*
- 3 (湖南农业大学动物科学技术学院,饲料安全与高效利用教育部工程研究中心,湖南畜禽安
- 4 全生产协同创新中心,长沙 410128)
- 5 摘 要:本试验旨在评定黄羽肉鸡不同来源高粱的表观代谢能(AME),并比较其养分代
- 6 谢率的差异。试验采用单因素随机设计,选择56日龄健康黄羽肉鸡公鸡24羽,随机分为4
- 7 个组,每组6个重复,每个重复1羽。用美国高粱、湖南高粱和内蒙古高粱分别替代基础饲
- 8 粮中 20%玉米作为试验饲粮,采用套算法计算美国高粱、湖南高粱和内蒙古高粱的 AME,
- 9 并比较其养分代谢率的差异。试验期7d,分为预试期(第1~4天)和正试期(第5~7天)
- 10 2 个阶段。结果表明: 1) 内蒙古高粱的 AME 最高, 比美国高粱和湖南高粱分别高 12.17%
- 11 和 15.81% (P<0.01)。2) 内蒙古高粱的粗纤维 (CF) 表观代谢率最高, 分别比美国高粱和
- 12 湖南高粱高 23.81%和 27.87% (P<0.01); 美国高粱次之,比湖南高粱高 3.28% (P<0.01)。
- 13 内蒙古高粱的粗脂肪(EE)表观代谢率极显著低于湖南高粱 0.50%(P<0.01)。不同来源高
- 14 梁的粗蛋白质(CF)、干物质(DM)、粗灰分(Ash)和无氮侵出物(NFE)表观代谢率
- 15 均无显著差异(P>0.05)。由此得出,通过套算法测定了美国高粱、湖南高粱和内蒙古高粱
- 16 的 AME 分别为 13.39、12.97 和 15.02 MJ/kg。不同来源高粱除 AME、EE 和 CF 表观代谢率
- 17 差异显著外,其余各养分表观代谢率均无显著差异。
- 18 关键词:黄羽肉鸡;高粱;单宁;代谢率;套算法
- 19 高粱为一年生禾本科高粱属草本植物,属于古老的谷类作物之一[1],具有抗旱、耐涝的

收稿日期: 2017-04-04

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0501209); 2014 科技部科技基础性工作专项(2014FY111000-3)

作者简介: 胡贵丽(1993—), 女,贵州遵义人,硕士研究生,研究方向为饲料资源开发与利用。E-mail: 1104969633@qq.com

^{*}通信作者: 贺 喜, 教授, 硕士生导师, E-mail: hexi111@126.com

- 20 特点。我国高粱种植广泛、产量高、养分含量丰富、价格低廉,是作为饲用作物开发的资源
- 21 之一。目前,畜牧业的快速发展使我国大宗饲料原料相对缺乏,国内玉米价格节节攀升,进
- 22 口量同比增长,依靠进口玉米解决能量饲料资源问题已不能满足养殖业发展的需要,而合理
- 23 使用高粱则能在较大程度上缓减饲用玉米的不足。Nyannor 等^[2]用 935 g/kg 高消化高粱
- 24 (PHD1 和 PHD2)、普通高粱和玉米饲喂肉鸡研究高粱的营养价值,结果显示,玉米的表
- 25 观代谢能(AME)显著高于 PHD1 和普通高粱,与 PHD2 无显著差异。Truong 等^[3]研究#3
- 26 和#5 高粱对肉鸡养分利用率的影响,结果表明,饲喂#3 高粱肉鸡的 AME、代谢能(ME):
- 27 总能(GE)和真表观代谢能(AMEn)较#5 高粱均有所提高。不同品种高粱的营养成分含
- 28 量不同, 所产生的 AME 和养分利用率也会存在差异。因此, 本试验以玉米-豆粕型饲粮为
- 29 基础饲粮,采用套算法评估美国高粱、湖南高粱和内蒙古高粱对黄羽肉鸡 AME 的影响并比
- 30 较其养分代谢率的差异,为不同来源高粱代谢能值的评定以及高粱饲粮配方的设计提供数据
- 31 参考。
- 32 1 材料与方法
- 33 1.1 试验材料
- 34 试验所用的美国高粱购于岳阳港口,湖南高粱购于湖南当地农户,内蒙古高粱购于内蒙
- 35 古当地。
- 36 1.2 试验动物
- 37 选择 56 日龄健康黄羽肉鸡公鸡 24 羽(购自湖南大地禽业公司),随机分为 4 个组,每
- 38 组 6 个重复,每个重复 1 羽。各组试验鸡体重无显著差异 (P>0.05)。试验采用单因素随机
- 39 设计,各组试验鸡分别饲喂基础饲粮(对照组)、美国高粱饲粮、湖南高粱饲粮和内蒙古高
- 40 粱饲粮,采用粉料饲喂。试验期7d,分为预试期(第1~4天)和正试期(第5~7天)2
- 41 个阶段。
- 42 1.3 试验饲粮

47

48

基础饲粮参考 NRC(1994)和《鸡饲养标准》(NY/T 33—2004)中的肉鸡营养需要, 44 选用玉米、豆粕、小麦麸等原料配制而成,其组成及营养水平见表 1。试验饲粮为美国高粱 45 饲粮、湖南高粱饲粮和内蒙古高粱饲粮,即分别用美国高粱、湖南高粱和内蒙古高粱替代基 46 础饲粮中 20%的玉米。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	66.40
小麦麸 Wheat bran	1.30
豆粕 Soybean meal	26.30
豆油 Soybean oil	2.40
石粉 Limestone	1.05
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.00
L-赖氨酸盐酸盐 L-Lys·HCl (70%)	0.15
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.10
食盐 NaCl	0.30
预混料 Premix ¹⁾	1.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.54
粗蛋白质 CP	17.45
钙 Ca	0.77

总磷 TP	0.51
有效磷 AP	0.29
赖氨酸 Lys	1.07
蛋氨酸 Met	0.41
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.75

- 49 ¹⁾ 预混料为每千克饲粮提供 Premix provided the following per kg of the diet: Cu 25 mg,
- 50 Fe 96 mg, Zn 98 mg, Mn 105 mg, I 0.9 mg, Se 0.4 mg, VA 15 750 IU, VD₃ 4 725 IU, VE 18.9
- 51 mg, VK 4.635 mg, VB₁ 3.09 mg, VB₂ 9.45 mg, VB₆ 4.635 mg, VB₁₂ 0.018 54 mg, 烟酸 niacin
- 52 30.9 mg, 生物素 biotin 0.063 mg, 泛酸 pantothenic acid 15.45 mg, 叶酸 folic acid 0.927 mg,
- 53 植物多糖 plant polysaccharide 15 mg。
- 54 2) 粗蛋白质为实测值,其余营养水平为计算值。CP was a measured value, and the other
- nutrient levels were calculated values.
- 56 1.4 饲养管理
- 57 试验鸡采用单笼独立饲养,鸡舍自然通风和光照,定期打扫舍内卫生,相对湿度保持在
- 58 55%~65%,自由饮水、采食。每天早晨回收残料并称重记录。预试期间,观察每只鸡的采
- 59 食量。绝食 12 h 后进入正试期,少量多次饲喂,采用全收粪法进行代谢试验。
- 60 1.5 指标测定及方法
- 61 1.5.1 饲粮和粪便样品的采集和测定
- 62 根据国标法(GB/T 14699.1—2005)中《饲料采样法》采集饲粮粉碎后样品 1 kg, 按"四
- 63 分法"减少到 250 g, 分装于样品袋中, 标注样品信息, -20 ℃冰箱保存待测。
- 64 正试期间, 饲喂 4 h 后收集粪盘中的排泄物, 拣出羽毛和遗洒饲粮。收集后每 100 g 鲜
- 65 粪加 20 mL 10%硫酸, 并于-10 ℃冰柜保存。试验结束后, 将收集的排泄物在 65 ℃下烘干

- 66 至恒重,室温下回潮 24 h,记录每个重复的干排泄物重,并粉碎,过 40 目筛,混合均匀,
- 67 装袋封口备测。
- 68 饲粮和粪便中干物质 (DM) 含量参照 GB/T 6435—2006 方法测定, GE 采用 WZR-1T-B
- 69 自动量热仪测定,粗蛋白质(CP)含量使用 FOSS-2300 自动凯氏定氮仪测定,粗脂肪(EE)
- 70 含量采用索氏提取法测定,粗纤维(CF)含量使用 ANKOM A200i 半自动纤维分析仪测定,
- 71 粗灰分(Ash)含量采用 GB/T 6438—92 方法测定,单宁(tannins)含量使用分光光度计测
- 72 定。无氮浸出物(NFE)含量通过计算得出,公式如下:
- 73 NFE (%) =DM (%) -[(CP (%) +EE (%) +CF (%) +ash (%)].
- 74 1.5.2 计算公式
- 75 饲粮中营养物质的表观代谢率(%)=100×[(食入该营养物质的量-对应粪中该营养物质
- 76 的量)/食入该营养物质的量)]。
- 77 全收粪法计算 AME 的公式为:
- 78 $AME=(I \times Econcfd F \times Econcdg)/I$.
- 79 式中: I 为采食量(kg); F 为排泄物总量(kg); Econcfd 为饲粮能值(MJ/kg); Econcdg
- 80 为排泄物能值(MJ/kg)。
- 81 套算法计算待测饲料原料营养物质表观代谢率的公式为:
- 82 $MF(\%)=MB+(MT-MB)/f_{\circ}$
- 83 式中: MF 为待测饲料原料某营养物质的表观代谢率; MB 为基础饲粮该营养物质的表
- 84 观代谢率; MT 为试验饲粮该营养物质的表观代谢率; f 为待测饲料原料在试验饲粮中所占
- 85 的比例。
- 86 1.6 数据处理与统计分析

%

95

96

- 87 试验数据用 Excel 2007 软件进行初步处理后,采用 SPSS 17.0 软件的单因素方差分析
- 88 (one-way ANOVA)程序进行显著性分析,若组间差异显著则采用 Duncan 氏法进行多重比
- 89 较,以 P<0.05 为差异显著性标准。试验结果以"平均值土标准差"表示。
- 90 2 结果与分析
- 91 2.1 不同来源高粱饲粮的主要营养物质含量及表观代谢能
- 92 由表 2 可知,基础饲粮、美国高粱饲粮、湖南高粱饲粮和内蒙古高粱饲粮的主要营养物
- 93 质含量相近。美国高粱饲粮的单宁含量最低,为0.21%,湖南高粱饲粮和内蒙古高粱饲粮的
- 94 单宁含量相近,分别为 0.33%和 0.32%。

表 2 不同来源高粱饲粮的主要营养物质含量

Table 2 Main nutrient contents of diets with different sorghum sources

总能 GE/ 粗蛋白 粗脂肪 粗灰分 粗纤维 无氮侵出 干物质 项目 Items 单宁 Tannins 物 NFE (MJ/kg) 质 CP EE CF DM Ash 基础饲粮 Basal diet 16.57 3.95 4.29 56.94 87.76 0.15 17.45 5.13 美国高粱饲粮 16.41 15.56 4.00 4.28 4.09 60.10 0.21 88.03 American sorghum diet 湖南高粱饲粮 Hunan 16.43 15.84 3.89 4.65 3.89 59.74 88.01 0.33 sorghum diet 内蒙古高粱饲粮 Inner 16.54 15.29 3.67 4.88 5.22 58.99 88.05 0.32 Mongolia sorghum diet

97 由表 3 可知,不同来源高粱的 AME 差异极显著(P<0.01);美国高粱、湖南高粱和内

98 蒙古高粱的 AME 分别为 13.39、12.97 和 15.02 MJ/kg。其中,内蒙古高粱的 AME 最高,比

99 美国高粱和湖南高粱分别高 12.17%和 15.81% (P<0.01)。

100 表 3 不同来源高粱的表观代谢能和主要营养物质的表观代谢率

Table 3 AME and apparent metabolic rate of major nutrients of sorghums from different

102	sources %						
	表观代谢能	粗蛋白质	粗脂肪	粗灰分	粗纤维	无氮侵出物	干物质
项目 Items	AME/				, .	, -, , , , , , , , , , , , , , , , , ,	,
		CP	EE	Ash	CF	NFE	DM
	(MJ/kg)						
美国高粱 American	13.39±0.96 ^{Bb}	43.14±0.63	80.20±0.22 ^{ABa}	17.90±0.88	10.08±0.14 ^B	85.80±0.03	69.47±0.06
sorghum							
湖南高粱 Hunan	12.97±0.67 ^{Bb}	42.83±0.46	80.41±0.04 ^{Aa}	17.20±1.02	9.76±0.18 ^C	85.81±0.06	69.42±0.04
sorghum							
内蒙古高粱 Inner	15.02±0.77 ^{Aa}	42.78±0.64	80.01±0.14 ^{Bb}	18.56±0.72	12.48±0.17 ^A	85.83±0.03	69.49±0.07
Mongolia sorghum							
P 值 P-value	0.001	0.520	0.002	0.053	< 0.001	0.438	0.145

- 103 同列数据肩标相同或无字母表示差异不显著(P>0.05),不同小写字母表示差异显著(P
- 104 <0.05),不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。
- In the same column, values with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P > 0.05), and with different small letter superscripts mean significant difference (P < 0.05).
- 107 0.05), while with different capital letter superscripts mean significant difference (P<0.01).
- 108 2.2 不同来源高粱的主要营养物质表观代谢率
- 109 由表 3 可知,不同来源高粱的 CF 表观代谢率差异极显著 (P<0.01),内蒙古高粱最高,
- 110 分别比美国高粱和湖南高粱高 23.81%和 27.87% (P<0.01); 美国高粱次之, 比湖南高粱高
- 111 3.28% (P<0.01)。内蒙古高粱的 EE 表观代谢率极显著低于湖南高粱, 低 0.50% (P<0.01)。

- 112 不同来源高粱的 CP 表观代谢率均在 40%以上,其中美国高粱的 CP 表观代谢率最高,湖南
- 113 高粱次之,内蒙古高粱最低,但3者无显著差异(P>0.05)。不同来源高粱的 DM、Ash、
- 114 NFE 表观代谢率也均无显著差异(P>0.05)。
- 115 3 讨论
- 116 3.1 黄羽肉鸡不同来源高粱 AME
- 117 本试验研究发现,美国高粱、湖南高粱和内蒙古高粱的 AME 分别为 13.39、12.97 和 15.02
- 118 MJ/kg,这可能是由于不同来源高粱中抗营养因子含量的不同所导致的。李筱倩等^[4]研究显
- 119 示,高单宁含量褐高粱与低单宁含量高粱的 AME 差异极显著,与本试验结果相一致。
- 120 Sannamani 等^[5]用红、白、黄 3 种高粱替代 50%、75%、100%的玉米,结果显示,50%黄高
- 121 梁组的能量代谢率极显著高于对照组。不同单宁含量高粱的能量代谢率不同,这是由于单宁
- 122 含量过高影响饲粮的适口性,直接影响家禽的采食量,进而影响能量的代谢率。不同来源高
- 123 粱的品质受品种、收获期、贮存方法、环境、气候条件和土壤条件等因素的影响。胡贵丽等
- 124 [6]研究显示,美国高粱的单宁含量最低,为 0.31%;内蒙古高粱次之,为 1.1%;湖南高粱最
- 125 高,为1.38%。用不同来源高粱等比例替代玉米会使饲粮的单宁含量同高粱原料单宁含量产
- 126 生一致性变化。本试验中,不同高粱饲粮的单宁含量以湖南高粱饲粮为最高,内蒙古高粱饲
- 127 粮次之,美国高粱饲粮最低。观察高粱籽实的颜色可知,湖南高粱颜色偏深,内蒙古高粱次
- 128 之,美国高粱颜色偏浅。由此推测,高粱籽实的颜色是预测单宁含量的一个重要指标^[7]。
- 129 3.2 黄羽肉鸡不同来源高粱营养物质代谢率
- 130 本试验结果显示,不同来源高粱的 CF 表观代谢率差异极显著,内蒙古高粱最高,美国
- 131 高粱次之,湖南高粱最低;内蒙古高粱的 EE 表观代谢率却极显著低于湖南高粱;不同来源
- 132 高粱的 DM、Ash、NFE 表观代谢率均无显著差异。Tandiang 等^[8]用低单宁含量的高粱替代
- 133 1/3、2/3、3/3 的玉米饲喂肉鸡,结果显示,各组间 EE 代谢率差异极显著, DM、Ash 代谢
- 134 率均无显著差异,与本试验结果相一致。本试验结果也得出,不同来源高粱的 CP 表观代谢

- 135 率均在 40%以上,其中美国高粱的 CP 表观代谢率最高,湖南高粱次之,内蒙古高粱最低,
- 136 但 3 者无显著差异,这可能是由于受高粱所含的抗营养因子单宁的影响。Duodu等[9]研究发
- 137 现,高粱含有的γ和β醇溶蛋白位于蛋白质体的外周,阻碍了位于中心的主要贮藏蛋白质的
- 138 消化。Sultan 等[10]发现高粱的 CP 代谢率低于玉米。3 种高粱的 NFE 表观代谢率比较一致
- 139 (85.80%~85.83%),与 Garcia 等[11]研究不一致,原因可能与被测高粱的替代比例、肉鸡
- 140 品种和饲粮组合效应等因素有关。
- 141 3.3 套算法评定黄羽肉鸡不同来源高粱营养物质代谢率
- 142 套算法是评定单个饲料原料营养价值的经典方法。根据被测饲料原料的性质而确定其所
- 143 占的比例,传统的套算法试验饲粮由 50%~80%基础饲粮和 20%~50%待测饲料原料组成
- 144 [12]。张子仪等[13]以 6 周龄来航鸡为试验动物,证明能量饲料的表观代谢能随待测饲料原料
- 145 在试验饲粮中比例的增加而呈递减规律。这表明基础饲粮和被测饲料原料营养水平的差异也
- 146 会影响被测饲料原料生物学效价的评定。本试验中不同来源高粱替代玉米的比例为 20%,
- 147 在今后的类似试验中,一方面可以适当增加被测高粱的替代比例,另一方面也可在基础饲粮
- 148 中使用一定比例的被测高粱,以减小试验误差。
- 149 4 结 论
- 150 通过套算法测定了美国高粱、湖南高粱和内蒙古高粱的 AME 分别为 13.39、12.97 和
- 151 15.02 MJ/kg。不同来源高粱除 AME、EE 和 CF 表观代谢率差异显著外,其余各养分表观代
- 152 谢率均无显著差异。
- 153 参考文献:
- 154 [1] 崔凤娟,田福东,王振国,等.饲用高粱品种品质性状的比较及评价[J].草地学
- 155 报,2012,20(6):1112-1116.
- 156 [2] NYANNOR E K,ADEDOKUN S A,HAMAKER B R,et al. Nutritional evaluation of high-digestible
- sorghum for pigs and broiler chicks[J]. Journal of Animal Science, 2007, 85(1):196–203.

- 158 [3] TRUONG H H,NEILSON K A,MCINERNEY B V,et al. Performance of broiler chickens
- offered nutritionally-equivalent diets based on two red grain sorghums with quantified kafirin
- 160 concentrations as intact pellets or re-ground mash following steam-pelleting at 65 or 97 °C
- 161 conditioning temperatures[J]. Animal Nutrition, 2015, 1(3):220–228.
- 162 [4] 李筱倩,张艳云,孙龙生,等.高粱的单宁含量对其营养物质利用率的影响[J].中国畜牧杂
- 163 志,1998,34(4):24-25.
- [5] SANNAMANI P,TYAGI P K,TYAGI P K,et al. Feeding value of high and low tannin sorghum
- as broiler feed.[J].Indian Journal of Poultry Science,2010,45(1)35–41.
- 166 [6] 胡贵丽,叶小飞,王玉诗,等.不同来源高粱替代玉米对黄羽肉鸡生长性能、肠道黏膜形态结
- 167 构和血清指标的影响[J].动物营养学报,2017,29(7):2325-2334.
- 168 [7] SEDGHI M, EBADI M R, GOLIAN A, et al. Estimation and modeling true metabolizable energy
- of sorghum grain for poultry[J].Poultry Science,2011,90(5):1138–1143.
- 170 [8] TANDIANG D M,DIOP M T,DIENG A,et al. Effect of corn substitution by sorghum grain with
- low tannin content on broilers production: animal performance, nutrient digestibility and carcass
- characteristics[J].International Journal of Poultry Science, 2014, 13(10):568–574.
- 173 [9] DUODU K G,TAYLOR J R N,BELTON P S,et al. Factors affecting sorghum protein
- digestibility[J].Journal of Cereal Science,2003,38(2):117–131.
- 175 [10] SULTAN A,ULLAH R,KHAN S,et al.Nutrient digestibility values and apparent
- metabolizable energy of corn, wheat and sorghum by pheasants (*Phasianus colchicus*)[J]. Pakistan
- 177 Veterinary Journal, 2014, 34(4): 479–483.
- 178 [11] GARCIA R, MENDES A, SARTORI J, et al. Digestibility of feeds containing sorghum, with and
- 179 without tannin, for broiler chickens submitted to three room temperatures [J]. Revista Brasileira de
- 180 Ciência Avícola ,2004,6(1):55–60.

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

202

181 [12] 韩友文.饲料与饲养学[M].北京:中国农业出版社,1997.

182 [13] 张子仪,吴克谦,吴同礼,等.应用回归分析评定鸡饲料表观代谢能值的研究[J].畜牧兽医学

183 报,1981,12(4):223-230.

184 Evaluation of Apparent Metabolic Energy and Comparison of Nutrient Metabolic Rate of

Different Sources Sorghum by Feeding Yellow-Feathered Broilers

HU Guili YE Xiaofei WANG Yushi FAN Zhiyong ZHANG Shirui HE Xi

(Engineering Research Center for Feed Safety and Efficient Utilization of Education, College of

Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Hunan Co-Innovation Center of

Animal Production Safety, Changsha 410128, China)

Abstract: This study was conducted to evaluate the apparent metabolizable energy (AME) and compare the difference of nutrient metabolic rate of different sources sorghum by feeding yellow-feathered broilers. Twenty four 56-day-old healthy male yellow-feathered broilers were randomly allocated to four groups with six replicates per group and one broiler per replicate according single-factor randomized design. The experimental diets were the *American* sorghum, *Hunan* sorghum and *Inner Mongolia* sorghum to replace 20% corn in the basal diet, respectively, and evaluated the AME and compared the difference of nutrient metabolic rate of *American* sorghum, *Hunan* sorghum and *Inner Mongolia* sorghum. The experimental period lasted for 7 days, including 2 periods of 4-day pre-test period and 3-day test period. The results showed as follows: 1) the AME of *Inner Mongolia* sorghum was the highest, which was significantly higher than that of *American* sorghum and *Hunan* sorghum for 12.17% and 15.81% (*P*<0.01). 2) The apparent metabolic rate of crude fiber (CF) of *Inner Mongolia* sorghum was the highest, which was significantly higher than that of *American* sorghum and *Hunan* sorghum for 23.81% and

^{*}Corresponding author, professor, E-mail: hexi111@126.com (责任编辑 李慧英)

27.87% (P<0.01); closely followed by the apparent metabolic rate of CF of *American* sorghum, which was significantly higher than that of *Hunan* sorghum for 3.28% (P<0.01). The apparent metabolic rate of ether extract (EE) of *Inner Mongolia* sorghum was significantly lower than that of *Hunan* sorghum for 0.05% (P<0.01). There were no significant difference in the apparent metabolic rates of crude protein (CF), dry matter (DM), crude ash (Ash) and nitrogen-free (NFE) of different sources sorghum (P>0.05). In conclusion, the AME of *American* sorghum, *Hunan* sorghum and *Inner Mongolia* sorghum by substitution method are 13.39, 12.97 and 15.02 MJ/kg, respectively. The AME and the apparent metabolic rates of EE and CF of different sources sorghum have significant differences, and the apparent metabolic rates of the other nutrients have no significant differences.

Key words: yellow-feathered broilers; sorghum; tannins; metabolic rate; substitution method